

Test EBV Quant Assay (Panther Fusion® System)

Per uso diagnostico *in vitro*

Solo per l'esportazione dagli USA

SOMMARIO

Informazioni generali	2
Uso previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Principi della procedura	2
Avvertenze e precauzioni	3
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	6
Raccolta, trattamento e conservazione dei campioni biologici	7
Campioni caricati sul Panther Fusion System	8
Trasporto dei campioni biologici	8
Panther Fusion System	9
Reagenti e materiali forniti per il test Panther Fusion EBV Quant Assay	9
Materiali richiesti e disponibili separatamente	10
Materiali opzionali	11
Procedura di test del Panther Fusion System	11
Note procedurali	13
Controllo della qualità	15
Calibrazione del test	15
Controlli positivi e negativi	15
Controllo interno	15
Interpretazione dei risultati	16
Limiti	17
Prestazioni	18
Limite di rilevamento utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS	18
Intervallo lineare	18
Limite inferiore di quantificazione utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS	19
Conferma del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) nei genotipi di EBV	20
Riconducibilità al primo standard internazionale dell'OMS	21
Precisione all'interno del laboratorio	21
Sostanze potenzialmente interferenti	22
Specificità analitica	23
Correlazione fra metodi	25
Contaminazione crociata	25
Bibliografia	26
Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni	27

Informazioni generali

Uso previsto

Il test EBV Quant Assay Panther Fusion® è un test di amplificazione degli acidi nucleici (RT-PCR) *in vitro* completamente automatizzato per la quantificazione del DNA del virus di Epstein-Barr (EBV) umano in campioni di plasma EDTA umano.

Il test EBV Quant Assay Panther Fusion è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nella gestione dei pazienti sottoposti a trapianto di organi solidi e di quelli sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

Il test EBV Quant Assay Panther Fusion non deve essere utilizzato come test di screening per verificare la presenza di EBV nel sangue o negli emoderivati. Questo test è destinato all'utilizzo sul sistema Panther Fusion System.

Riepilogo e spiegazione del test

Il virus EBV è un virus a DNA a doppia elica lineare e ubiquitario di 172 kb che appartiene alla famiglia degli Herpesvirus. Esistono due principali genotipi di EBV, il tipo 1 e il tipo 2, distinti dalle differenze nel gene EBNA-2.

A seguito di un'infezione primaria, EBV entra nel linfocita B circolante e da allora in poi rimane in uno stato latente. Si stima che il 90% della popolazione mondiale sia infetta da EBV¹. Negli individui immunocompetenti, l'infezione da EBV può essere asintomatica durante l'infanzia; tuttavia, potrebbe portare alla mononucleosi infettiva² negli adulti ed è associata a diversi tipi di cancro: linfomi, leucemie, neoplasie epiteliali maligne e cancro dello stomaco³.

Negli individui immunocompromessi, come coloro che hanno subito un trapianto e gli individui infettati dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV), la riattivazione di EBV può provocare una linfoproliferazione maligna ed è un'importante causa di morbidità e mortalità. La maggior parte di questi tumori associati a EBV, noti come "malattia linfoproliferativa post-trapianto" (PTLD), si manifesta spesso entro il primo anno dopo il trapianto³.

Il test di amplificazione quantitativa degli acidi nucleici da campioni di sangue intero o plasma è il metodo preferito per il monitoraggio dell'infezione e della malattia da EBV nei pazienti che hanno subito trapianti perché è rapido, sensibile, pratico e non invasivo. Linee guida recenti raccomandano un monitoraggio settimanale della carica virale di EBV per supportare le decisioni sull'inizio della terapia anti-EBV e per monitorare la risposta alla terapia⁴.

In generale, valori di carica virale più elevati sono legati ad un aumentato rischio di malattia correlata ad EBV⁵. Pertanto, la quantificazione del DNA di EBV in combinazione con la presentazione clinica e altri marker di laboratorio è cruciale nella gestione dei pazienti con infezione da EBV.

Principi della procedura

Il Panther Fusion System automatizza completamente il trattamento dei campioni biologici, inclusi lisi cellulare, cattura di acidi nucleici, amplificazione e rilevamento per il test EBV Quant Assay Panther Fusion. Il test EBV Quant Assay Panther Fusion ha come target il gene EBNA-1 altamente conservato per garantire una quantificazione accurata del DNA di EBV. Il test è standardizzato al primo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC: 09/260) per EBV⁶.

Trattamento del campione e cattura dell'acido nucleico: un controllo interno (IC-B) viene aggiunto automaticamente a ciascun campione biologico tramite il reagente di cattura B di lavoro Fusion (wFCR-B) per monitorare l'interferenza durante il trattamento dei campioni biologici, l'amplificazione e il rilevamento causati da errore del reagente o sostanze inibitorie. I campioni biologici vengono prima aggiunti al reagente di cattura B Fusion (FCR-B) e al reagente di potenziamento B Fusion (FER-B) per il rilascio di acido nucleico per l'ibridizzazione su particelle magnetiche. In seguito, le particelle di cattura vengono separate dalla matrice residua di campione biologico in un campo magnetico tramite una serie di fasi di lavaggio con un detergente neutro. L'acido nucleico catturato viene poi eluito dalle particelle magnetiche con un reagente a bassa forza ionica (Panther Fusion Elution Buffer, tampone di eluizione Panther Fusion).

Nota: il Panther Fusion System aggiunge l'IC-B sul FCR-B. Dopo l'aggiunta dell'IC-B al FCR-B, vi si fa riferimento come wFCR-B.

Amplificazione della PCR e rilevamento della fluorescenza: la miscela master PCR a dose singola liofilizzata viene ricostituita con tampone di ricostituzione I Panther Fusion e combinata con l'acido nucleico eluito in una provetta di reazione. Viene aggiunto il reagente dell'olio Panther Fusion per prevenire l'evaporazione durante la reazione di PCR. L'amplificazione del bersaglio basata sulla PCR avviene di conseguenza con primer senso e antisenso target-specifici e una sonda, generando un segnale fluorescente.

Il sistema Panther Fusion fornisce un valore Ct proporzionale alla concentrazione di EBV nei campioni del test. La concentrazione del campione viene determinata dal software del Panther Fusion System utilizzando i valori Ct di EBV per ciascuna reazione e confrontandoli con la curva di calibrazione. I risultati di EBV vengono refertati in IU/mL e $\log_{10}$ IU/mL per i campioni biologici di plasma. Gli obiettivi e i canali utilizzati per il relativo rilevamento sul Panther Fusion System vengono riepilogati nella seguente tabella:

Target	Gene interessato	Canale dello strumento
EBV	EBNA-1	HEX
Controllo interno	Non applicabile	Quasar® 705

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e *Manuale per l'operatore del Panther®/ Panther Fusion System* prima di eseguire questo test.
- D. Il reagente di potenziamento B Panther Fusion (FER-B) è corrosivo e pericoloso se ingerito; provoca inoltre gravi ustioni alla pelle e lesioni agli occhi.
- E. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di questo test e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire queste procedure. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- F. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica deve essere permessa esclusivamente al personale adeguatamente formato sulla manipolazione di materiali infettivi.

- G. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni biologici e reagenti.
- H. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- I. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5-3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).
- J. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.
- K. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- L. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol quando si allentano o si tolgono i tappi dei contenitori dei campioni biologici. I campioni biologici possono contenere livelli di virus o altri organismi estremamente elevati. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non entrino in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- M. Non utilizzare i reagenti, i calibratori o i controlli dopo la data di scadenza.
- N. Conservare i componenti dei test alle condizioni di conservazione raccomandate. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti e Procedura di test del Panther Fusion System* per maggiori informazioni.
- O. Non combinare liquidi o reagenti del test. Non rabboccare reagenti o liquidi: il Panther Fusion System verifica i livelli dei reagenti.
- P. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- Q. I requisiti del controllo di qualità devono essere analizzati in conformità alle normative nazionali, internazionali e/o regionali in vigore o ai requisiti di accreditamento e le procedure di controllo di qualità standard del proprio laboratorio.
- R. Non utilizzare la cartuccia del test se il sacchetto di conservazione non presenta più il sigillo o se la pellicola della cartuccia del test non è integra. Contattare l'assistenza tecnica Hologic se dovesse verificarsi uno di questi eventi.
- S. Non utilizzare le confezioni di liquido se il sigillo della pellicola non è integro. Contattare l'assistenza tecnica Hologic se dovesse verificarsi un tale evento.
- T. Manipolare con cura le cartucce del test. Non far cadere o capovolgere le cartucce del test. Evitare l'esposizione prolungata alla luce ambientale.
- U. Alcuni reagenti di questo kit sono etichettati con simboli di rischio e sicurezza.

Nota: le informazioni relative alle comunicazioni in merito alle indicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza UE (SDS). Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli specifiche per la propria area geografica, fare riferimento alla scheda SDS specifica dell'area geografica nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli all'indirizzo www.hologic.com/package-inserts.

Informazioni sui pericoli per l'UE	
—	Cartuccia del test EBV Quant Assay Panther Fusion ALFA-CICLODESTRINA 20-25% H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
—	Reagente di cattura B Panther Fusion (FCR-B) HEPES 15-20% SALE DI LITIO LAURILSOLFATO 10-15% ACIDO SUCCINICO 1-5% IDROSSIDO DI LITIO, MONOIDRATO 1-5% H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
 	Reagente di potenziamento B Panther Fusion (FER-B) IDROSSIDO DI LITIO MONOIDRATO 5-10% PERICOLO H302 - Nocivo se ingerito. H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P270 - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P330 - Sciacquare la bocca. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato. P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P301 + P330 + P331 - IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia]. P304 + P340 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta). P363 - Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. P405 - Conservare sotto chiave.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

A. La seguente tabella indica i requisiti di conservazione e manipolazione per questo test.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Stabilità a bordo/ a confezione aperta ¹	Conservazione a confezione aperta
Cartuccia del test EBV Quant Assay Panther Fusion	Da 2 °C a 8 °C	60 giorni	Da 2 °C a 8 °C ²
Reagente di cattura B Panther Fusion (FCR-B)	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Reagente di potenziamento B Panther Fusion (FER-B)	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Controllo interno B Panther Fusion (CI-B)	Da 2 °C a 8 °C	(In wFCR-B)	Non applicabile
Tampone di eluizione Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Olio Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di ricostituzione I Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Calibratori per test EBV Quant Assay Panther Fusion (1-5)	Da -15 °C a -35 °C	Fiala monouso	Non applicabile: monouso
Controllo positivo alto Panther Fusion EBV-BKV Quant	Da -15 °C a -35 °C	Fiala monouso	Non applicabile: monouso
Controllo positivo basso Panther Fusion EBV-BKV Quant	Da -15 °C a -35 °C	Fiala monouso	Non applicabile: monouso
Controllo negativo per trapianto Panther Fusion (III)	Da -15 °C a -35 °C	Fiala monouso	Non applicabile: monouso

Quando i reagenti vengono rimossi dal sistema Panther Fusion, riportarli immediatamente alle rispettive temperature di conservazione appropriate.

¹ La stabilità a bordo inizia nel momento in cui il reagente viene collocato sul Panther Fusion System per la cartuccia del test EBV Quant Assay Panther Fusion, il FCR-B, il FER-B e l'IC-B. La stabilità a bordo per il tampone di ricostituzione I Panther Fusion, il tampone di eluizione Panther Fusion e il reagente dell'olio Panther Fusion inizia quando la confezione di reagente viene utilizzata per la prima volta.

² Se la cartuccia del test viene rimossa dal Panther Fusion System, conservarla in un contenitore ermetico con essiccante alla temperatura di conservazione raccomandata.

B. Il reagente B di cattura di lavoro Panther Fusion (wFCR-B) e il reagente B di potenziamento Panther Fusion (FER-B) sono stabili per 60 giorni se tappati e conservati a una temperatura di 15-30 °C. Non refrigerare.

C. Smaltire gli eventuali reagenti non utilizzati che non siano più stabili.

D. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente.

E. **Non congelare i reagenti.**

F. **Non ricongelare i controlli o i calibratori.**

G. Le cartucce non aperte, i calibratori (1-5) e i controlli del test EBV Quant Assay rimangono stabili fino a 18 mesi successivi alla produzione secondo le condizioni di conservazione raccomandate. Fare riferimento alla data di scadenza sulla confezione.

Raccolta, trattamento e conservazione dei campioni biologici

Campioni biologici: materiale clinico raccolto dal paziente e collocato in un apposito sistema di trasporto. Per il test EBV Quant Assay Panther Fusion, ciò include campioni di sangue intero raccolti in provette contenenti anticoagulanti EDTA per la preparazione dei campioni di plasma o provette di preparazione del plasma (PPT).

Campioni: termine più generico che descrive qualsiasi materiale usato per l'analisi con il Panther Fusion System, inclusi campioni biologici, calibratori e controlli.

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: prestare attenzione ad evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni biologici. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Nota: per la conservazione dei campioni si consigliano esclusivamente provette secondarie in plastica.

A. Raccolta dei campioni biologici

Per preparare il plasma, è possibile utilizzare i campioni biologici di sangue intero raccolti nelle seguenti provette in vetro o plastica:

- Provette contenenti anticoagulanti EDTA
- Provette di preparazione del plasma (PPT)

B. Trattamento dei campioni biologici

1. Plasma: il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa fra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il plasma può essere preparato da provette primarie EDTA o PPT. Separare il plasma dai globuli rossi granulari secondo le istruzioni del produttore relative alla provetta utilizzata. Il plasma può essere analizzato sul Panther Fusion System in una provetta primaria o trasferito in una provetta secondaria come ad esempio una provetta per aliquota di campione Aptima® (SAT).

Per garantire un volume di campione adeguato, fare riferimento alla tabella seguente:

Tabella 1: Volume minimo di campione

Provetta (dimensioni e tipo)	Volume minimo per 1 replicato
Provetta per aliquota di campione (SAT) Aptima	0,6 mL
12x75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13x100 mm con Gel	0,7 mL
16 x 100 mm con gel	1,1 mL

Se non analizzato immediatamente, il plasma può essere conservato in conformità alle specifiche riportate nella sezione *Condizioni di conservazione dei campioni biologici*. Se il plasma viene trasferito in una provetta secondaria, può essere congelato a una temperatura di -20 °C. Non congelare i campioni biologici di plasma nelle provette di raccolta primaria EDTA.

C. Condizioni di conservazione dei campioni biologici

I campioni biologici possono essere conservati nelle seguenti condizioni:

1. Stabilità del plasma

- I campioni biologici non trattati sono stabili per 24 ore a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C dopo la centrifugazione.
- I campioni biologici non trattati sono stabili per 5 giorni a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C dopo la centrifugazione.
- I campioni trattati e quelli non trattati sono stabili per 60 giorni a una temperatura compresa tra -20 °C.
- I campioni congelati sono inoltre stabili fino a tre cicli di congelamento/scongelo.

Campioni caricati sul Panther Fusion System

I campioni di plasma possono essere lasciati sul Panther Fusion System senza tappo per un periodo massimo di 8 ore. I campioni possono essere rimossi dal Panther Fusion System ed essere analizzati a condizione che il tempo totale di permanenza nello strumento non superi le 8 ore prima del pipettaggio del campione da parte del Panther Fusion System.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione del campione biologico durante il trasporto come descritto in *Raccolta, trattamento e conservazione dei campioni biologici*.

Nota: i campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.

Panther Fusion System

Il Panther Fusion System è un sistema integrato per il test dell'acido nucleico che automatizza completamente tutti i passaggi necessari per eseguire i vari test Panther Fusion, dal trattamento dei campioni alle operazioni di amplificazione, rilevamento e riduzione dei dati.

Reagenti e materiali forniti per il test Panther Fusion EBV Quant Assay

Confezioni dei test

Componenti	Codice	Conservazione
Calibratori del test EBV Quant Assay Panther Fusion		
PCAL 1 qEBV, 3 per confezione	PRD-07159	Da -15 °C a -35 °C
PCAL 2 qEBV, 3 per confezione		
PCAL 3 qEBV, 3 per confezione		
PCAL 4 qEBV, 3 per confezione		
PCAL 5 qEBV, 3 per confezione		
Controlli del test EBV-BKV Quant Assay Panther Fusion		
Provetta di controllo positivo alto HPC, 5 per confezione	PRD-07158	Da -15 °C a -35 °C
Provetta di controllo positivo basso LPC, 5 per confezione		
Provetta di controllo negativo per trapianto NC III, 5 per confezione		
Cartuccia del test EBV Quant Assay Panther Fusion, 96 test		
Cartuccia del test qEBV Assay Panther Fusion, 12 test, 8 per confezione	PRD-07157	Da 2 °C a 8 °C
Controllo interno B Panther Fusion, 960 test		
Provetta di controllo interno B Panther Fusion, 4 per confezione	PRD-06234	Da 2 °C a 8 °C
Reagente B di estrazione Panther Fusion, 960 test		
Flacone di reagente di cattura B Panther Fusion, 240 test, 4 per confezione	PRD-06232	Da 15 °C a 30 °C
Flacone di reagente B di potenziamento Panther Fusion, 240 test, 4 per confezione		
Tampone di eluizione Panther Fusion, 2.400 test		
Confezione di tamponi di eluizione Panther Fusion, 1.200 test, 2 per confezione	PRD-04334	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di ricostituzione I Panther Fusion, 1.920 test		
Tamponi di ricostituzione I Panther Fusion, 960 test, 2 per confezione	PRD-04333	Da 15 °C a 30 °C
Reagente dell'olio Panther Fusion, 1.920 test		
Reagente dell'olio Panther Fusion, 960 test, 2 per confezione	PRD-04335	Da 15 °C a 30 °C

Materiali richiesti e disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. cat.
Panther® System	303095
Modulo Panther Fusion	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit di liquidi per test Aptima® Assay (Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente dell'olio Aptima)	303014 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504405
Oppure kit procedurale Panther System contiene unità multiprovetta (MTU), sacchetti di rifiuti, coperchi del contenitore di scarico, liquidi di test e Auto Detect*	303096 (5.000 test)
Puntali, 1.000 µL, filtrati, rilevatori di liquido, conduttivi e monouso: <i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le aree geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sull'area geografica.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031(10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Vassoi per provette Panther Fusion, 1.008 test, 18 vassoi per confezione	PRD-04000
Tappi non penetrabili Hologic di ricambio (tappo monouso)	PRD-06720 (100 tappi per sacchetto)
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M) Per le istruzioni sulla preparazione della soluzione di ipoclorito di sodio diluita, consultare il <i>Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System</i> .	—
Guanti monouso senza talco	—
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Puntali	—
Opzioni di provette di raccolta primarie (EDTA e PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifuga	—
Miscelatore Vortex	—

*Necessario solo per i test Aptima TMA Assay Panther.

Materiali opzionali

Materiali	N. cat.
Opzioni provetta secondaria:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Confezione di provette per aliquota di campione (SAT) Aptima (100 provette per sacchetto)	FAB-18184
Tappo per provetta di trasporto (confezione da 100) <i>tappo per SAT</i>	504415
Diluente dei campioni Aptima	PRD-03003
Kit diluente dei campioni Aptima <i>contiene il diluente dei campioni Aptima, 100 SAT e 100 tappi</i>	PRD-03478
Pipette di trasferimento	—
Agitatore oscillante per provette	—

Procedura di test del Panther Fusion System

Nota: per informazioni procedurali aggiuntive, consultare il Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5 – 3,5% (0,35 – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto e risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (Passaggio A.1).
3. Pulire eventuali pipettatori. Utilizzare la procedura di pulizia descritta in precedenza (Passaggio A.1).

B. Preparazione di calibratori e controlli

Consentire ai calibratori e ai controlli di raggiungere una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C prima del trattamento, come indicato di seguito:

1. Togliere i calibratori e i controlli dal luogo in cui sono conservati (temperatura compresa fra -15 °C e -35 °C) e porli a una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C. Durante l'intero processo di scongelamento, capovolgere delicatamente ciascuna provetta per miscelarla accuratamente. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Opzione. Per una miscelazione accurata, il calibratore e le provette di controllo possono essere collocati su un agitatore oscillante per provette. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Nota: nel capovolgere calibratori e controlli, non generare schiuma eccessiva. Infatti, la schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel Panther Fusion System.

2. Quando il contenuto della provetta si è scongelato, asciugare l'esterno della provetta con un panno monouso pulito e asciutto.
3. Per prevenire la contaminazione, non aprire le provette.

C. Preparazione del reagente

1. Rimuovere i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B dal luogo di conservazione.
2. Miscelare FCR-B fino a quando le sfere non sono completamente sospese. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
3. Aprire i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B e smaltirne i tappi. Aprire lo sportello del TCR sullo scomparto superiore del sistema Panther Fusion.
4. Collocare i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B nelle posizioni appropriate sul carosello del TCR.
5. Chiudere lo sportello del TCR.

Nota: il Panther Fusion System aggiunge l'IC-B sul FCR-B. Dopo l'aggiunta di IC-B al FCR-B, vi si fa riferimento come wFCR B (FCR B di lavoro). Se wFCR-B e FER-B vengono rimossi dal sistema, utilizzare nuovi tappi e conservare immediatamente conformemente alle corrette condizioni di conservazione.

D. Manipolazione dei campioni biologici

Nota: preparare i campioni biologici in base alle istruzioni contenute nella sezione Raccolta, trattamento e conservazione dei campioni biologici prima di caricarli sul Panther Fusion System.

Ispezionare le provette del campione prima di caricarle nella rastrelliera. Se una provetta del campione contiene bolle o ha un volume inferiore rispetto a quello osservato normalmente, battere delicatamente sul fondo della provetta per favorire il deposito del contenuto sulla parte inferiore.

E. Manipolazione dei campioni biologici di plasma

1. Assicurarsi che i campioni biologici trattati nelle provette primarie o i campioni biologici non diluiti nelle provette secondarie siano conservati correttamente secondo quanto indicato in *Raccolta, trattamento e conservazione dei campioni biologici*.
2. Assicurarsi che i campioni biologici congelati siano scongelati del tutto. Miscelare con vortex i campioni biologici scongelati per 3 – 5 secondi per miscelarli accuratamente.
3. Lasciare che i campioni biologici raggiungano una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C prima del trattamento. Per ulteriori informazioni sul caricamento dei campioni sullo strumento, vedere *Campioni caricati sul Panther Fusion System*.
4. Assicurarsi che ciascuna provetta primaria o secondaria contenga una quantità adeguata di campione biologico. Consultare Tabella 1 per il volume minimo di campione per 1 replicato.
5. Immediatamente prima del caricamento dei campioni biologici in una rastrelliera dei campioni, centrifugare ciascun campione biologico a 1.000 – 3.000 g per 10 minuti. Non rimuovere i tappi durante questo passaggio.

Per informazioni su come caricare la rastrelliera e togliere i tappi, consultare il passaggio F.2 indicato di seguito.

F. Preparazione del sistema

1. Per istruzioni sulla configurazione del Panther Fusion System, tra cui il caricamento di campioni, reagenti, cartucce del test e liquidi universali, fare riferimento a *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System* e *Note procedurali*.
2. Caricare i campioni nella rastrelliera dei campioni. Eseguire i seguenti passaggi per ciascuna provetta del campione (campione biologico e, quando necessario, calibratori e controlli):
 - a. Allentare il tappo di una delle provette del campione, senza però rimuoverlo.

Nota: prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol. Allentare delicatamente i tappi dei campioni.
 - b. Caricare la provetta del campione nella rastrelliera dei campioni.
 - c. Ripetere i passaggi 2.a e 2.b per ciascun campione rimanente.
 - d. Dopo il caricamento dei campioni nella rastrelliera dei campioni, rimuovere e gettare tutti i tappi delle provette del campione di una rastrelliera dei campioni. Per evitare la contaminazione, non far passare i tappi sopra le altre rastrelliere dei campioni o sopra le provette del campione.
 - e. Se necessario, utilizzare una pipetta di trasferimento monouso nuova per rimuovere eventuali bolle o schiuma. La presenza di bolle nella provetta pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel Panther Fusion System.
 - f. Dopo aver rimosso l'ultimo tappo, caricare la rastrelliera dei campioni in uno scomparto dei campioni.

Nota: se contemporaneamente si eseguono altri test e si analizzano altri tipi di campioni, fissare il fermo campioni prima del caricamento della rastrelliera dei campioni nello scomparto dei campioni.
 - g. Ripetere i passaggi da 2.a a 2.f per la successiva rastrelliera dei campioni.

Note procedurali

A. Calibratori e controlli

1. I calibratori qEBV (5 provette), il controllo positivo basso EBV-BKV (LPC), il controllo positivo alto EBV-BKV (HPC) e il controllo negativo trapianto (NC III) possono essere caricati in qualsiasi posizione nella rastrelliera dei campioni e in qualsiasi corsia dello scomparto campioni sul Panther Fusion System. Il pipettaggio del calibratore e del controllo inizierà quando i campioni di EBV saranno stati caricati nel sistema. Il pipettaggio dei campioni biologici inizierà una volta soddisfatte le due seguenti condizioni:
 - a. I calibratori e i controlli sono in fase di trattamento sul sistema.
 - b. I risultati validi dei calibratori e dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Dopo che il calibratore e le provette di controllo sono state pipettate e trattati per il test EBV Quant Assay Panther Fusion, i campioni biologici possono essere analizzati. I risultati della calibrazione sono validi per 60 giorni e i risultati del controllo sono validi per un massimo di 30 giorni (frequenza configurata da un amministratore) **a meno che:**
 - a. I risultati del calibratore risultino non validi.
 - b. I risultati del controllo risultino non validi.
 - c. L'operatore richieda di eseguire nuovi controlli/calibratori nel software del Panther Fusion System.

3. È necessaria una calibrazione per ogni nuovo lotto di cartucce del test caricato nel Panther Fusion System prima di utilizzarlo per il trattamento dei campioni biologici.
4. Ciascuna provetta di calibratore e controllo può essere utilizzata solo una volta.

Controllo della qualità

Calibrazione del test

Per generare risultati validi è necessario completare la calibrazione del test. I cinque calibratori positivi vengono eseguiti in triplicato tutte le volte che un nuovo lotto di cartucce del test viene caricato nel Panther Fusion System. Una volta stabilita, la calibrazione del test è valida per un periodo massimo di 60 giorni. Il software del Panther Fusion System avvisa l'operatore quando è necessario eseguire la calibrazione.

Durante il trattamento, il software Panther Fusion verifica automaticamente la validità della curva di calibrazione. Se la calibrazione non supera le verifiche di validità, il Panther Fusion System annulla automaticamente i campioni interessati e richiede una nuova serie di sessioni analitiche dei calibratori del test prima del pipettaggio di qualsiasi nuovo campione.

Per impostazione predefinita, il test tratterà i campioni come plasma non diluito.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. Un replicato di NC III (controllo negativo per trapianto), il PLC (controllo positivo basso) e l'HPC (controllo positivo alto) devono essere analizzati ogni volta che viene caricato nel Panther Fusion System un nuovo lotto di cartucce del test o quando la serie corrente di controlli validi per un lotto di cartucce attive è scaduta.

Il Panther Fusion System è stato configurato in modo da richiedere sessioni analitiche dei controlli del test in base a un intervallo specificato dall'amministratore di un massimo di 30 giorni. Il software sul Panther Fusion System avvisa l'operatore quando sono necessari controlli del test e non avvia nuovi test finché i controlli del test non vengono caricati e non hanno iniziato il trattamento.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità dei controlli del test vengono verificati automaticamente dal Panther Fusion System. Per generare risultati validi, i controlli del test devono superare una serie di verifiche di validità eseguite dal Panther Fusion System.

Se i controlli del test superano tutte le verifiche di validità, sono considerati validi per l'intervallo di tempo specificato dall'amministratore. Quando l'intervallo di tempo è trascorso, il Panther Fusion System contrassegna i controlli del test come scaduti e verrà richiesta una nuova serie di controlli del test prima di pipettare nuovi campioni.

Se uno qualunque dei controlli del test non supera le verifiche di validità, il Panther Fusion System annulla automaticamente i campioni interessati e verrà richiesta una nuova serie di controlli del test prima del pipettaggio di qualsiasi nuovo campione.

Controllo interno

Durante il processo di estrazione, viene aggiunto un controllo interno a ciascun campione. Durante il trattamento, i criteri di accettabilità del controllo interno vengono verificati automaticamente dal software del Panther Fusion System. Il rilevamento del controllo interno non è richiesto per campioni positivi a EBV. Il controllo interno deve essere rilevato in tutti i campioni negativi per i target EBV; i campioni che non soddisfano tali criteri saranno segnalati come non validi. Ogni campione con un risultato non valido deve essere rianalizzato.

Il software del Panther Fusion System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite attenendosi alle istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretazione dei risultati

Il Panther Fusion System determina automaticamente la concentrazione del DNA di EBV nei campioni biologici e nei controlli mettendo a confronto i risultati con una curva di calibrazione. Le concentrazioni di DNA di EBV sono riportate in IU/mL e $\log_{10}$ IU/mL. L'interpretazione dei risultati è inclusa nella Tabella 2.

Tabella 2: Interpretazione dei risultati del plasma

Risultati del test Aptima EBV Quant Assay riportati		
IU/mL	Valore $\log_{10}$	Interpretazione
Non rilevato	Non rilevato	DNA EBV non rilevato.
< 120 rilevato	< 2,08	Il DNA di EBV è stato rilevato ma a un livello inferiore al limite inferiore di quantificazione (LLOQ).
Da 120 a 1,50E09	Da 2,08 a 9,18	La concentrazione di DNA di EBV rientra nell'intervallo quantitativo compreso tra LLOQ e ULOQ IU/mL.
> 1,50E09	> 9,18	La concentrazione di DNA di EBV è superiore al limite superiore di quantificazione (ULOQ).
Non valido ^a	Non valido ^a	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere rianalizzato.

^a I risultati non validi vengono visualizzati in caratteri di colore blu.

Limiti

- A. L'utilizzo di questo test va limitato al personale formato sulla relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Evitare la contaminazione aderendo alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure specificate nel presente foglietto illustrativo.
- D. Sebbene siano rare, le mutazioni all'interno delle regioni altamente conservate del genoma virale coperto dai primer e/o le sonde nel test EBV Quant Assay Panther Fusion possono comportare una quantificazione inferiore o il mancato rilevamento del virus.
- E. I risultati negativi non precludono infezioni da EBV e non devono essere utilizzati come unica base per il trattamento o per prendere altre decisioni sulla gestione.
- F. Un risultato positivo indica il rilevamento di acido nucleico dal virus pertinente. L'acido nucleico potrebbe persistere anche dopo che il virus non è più vitale.

Prestazioni

Limite di rilevamento utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS

Si definisce limite di rilevamento (LoD) del test la concentrazione di DNA di EBV rilevata con una probabilità del 95% o superiore in conformità alle linee guida CLSI EP17-A2.⁸

Limite di rilevamento utilizzando gli standard dell'OMS nel plasma

Il valore LoD è stato determinato analizzando i pannelli del primo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC 09/260) per EBV diluito in plasma umano negativo al EBV. Venti (20) replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati con ciascuno dei tre lotti di reagente per un totale di 60 replicati per diluizione. È stata eseguita l'analisi Probit per generare i limiti di rilevamento previsti. I valori del LoD illustrati in Tabella 3 corrispondono ai risultati del lotto di reagente con il limite di rilevamento previsto più alto. Il LoD relativo al test EBV Quant Assay Panther Fusion utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS è pari a 54,1 IU/mL per il plasma.

Tabella 3: Limite di rilevamento per plasma utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per EBV

Limite di rilevamento previsto	Concentrazione (IU/mL)
10%	1,5
20%	2,4
30%	3,6
40%	5,1
50%	7,2
60%	10,2
70%	14,8
80%	22,4
90%	38,0
95%	54,1

Intervallo lineare

Intervallo lineare nel plasma

L'intervallo lineare è stato stabilito analizzando pannelli di EBV diluito in plasma umano negativo a EBV in conformità alle linee guida CLSI EP06-A.⁹ La concentrazione dei pannelli era compresa tra 1,98 log IU/mL e 9,26 log IU/mL. Il test EBV Quant Assay Panther Fusion ha dimostrato la linearità nel range analizzato. Il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del test è pari a 9,18 log IU/mL come illustrato in Figura 1.

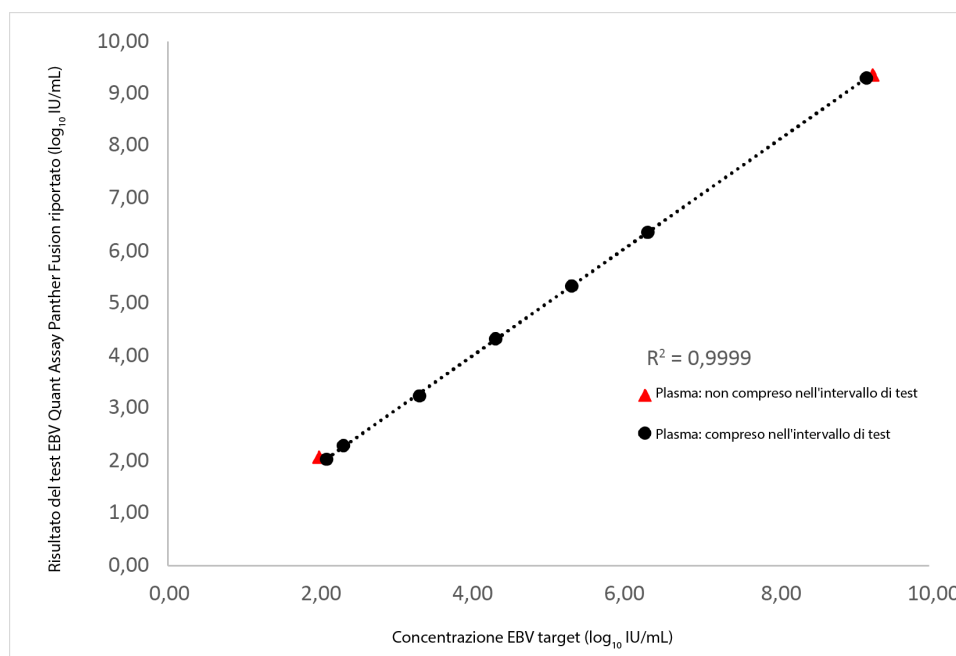


Figura 1. Linearità nel plasma

Limite inferiore di quantificazione utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS

Si definisce limite inferiore di quantificazione (LLoQ) la concentrazione più bassa alla quale EBV viene quantificato in modo affidabile, in conformità alle linee guida CLSI EP17-A2.⁸ L'errore totale è stato stimato utilizzando il modello Westgard: Errore totale (TE) = |bias| + 2 DS. Per garantire la precisione e l'accuratezza delle misurazioni, l'errore totale del test EBV Quant Assay Panther Fusion è stato stabilito a 1,2 log IU/mL, con un bias di conferma e una DS, rispettivamente $\leq 0,5$ log IU/mL e $\leq 0,35$ log IU/mL.

Limite inferiore di quantificazione utilizzando lo standard dell'OMS nel plasma

Il valore LLoQ è stato determinato analizzando i pannelli del primo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC 09/260) per EBV diluito in plasma umano negativo al EBV. Venti (20) replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati con ciascuno dei tre lotti di reagente per un totale di 60 replicati per diluizione. In Tabella 4, vengono illustrati i risultati del LLoQ per i tre lotti di reagente. Il LLoQ generato con il primo standard internazionale dell'OMS per EBV nel plasma è pari a 120 IU/mL (2,08 log IU/mL).

Tabella 4: Determinazione di LLoQ utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per EBV diluito nel plasma

Lotto di reagenti	N	N rilevato	Concentrazione target (log IU/mL)	Test EBV Quant Assay (log IU/mL)	DS (log IU/mL)	Bias (log IU/mL)	TE calcolato (log IU/mL)
1	20	20	1,93	2,06	0,21	0,2	0,6
	20	20	2,08	2,33	0,21	0,3	0,7
	20	20	2,18	2,45	0,13	0,3	0,5
	20	20	2,26	2,44	0,15	0,2	0,5
2	20	20	1,93	1,61	0,30	0,3	0,9
	20	20	2,08	1,79	0,23	0,3	0,8
	20	20	2,18	2,00	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,26	2,09	0,17	0,2	0,5
3	20	20	1,93	1,75	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,08	1,88	0,25	0,2	0,7
	20	20	2,18	2,09	0,12	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,04	0,15	0,2	0,5

DS = deviazione standard $\leq 0,35$ (log IU/mL).|Bias| = bias per il valore effettivo $\leq 0,5$ (log IU/mL).

La diluizione corrispondente alla concentrazione del LLoQ e analizzata su ciascun lotto di reagente viene evidenziata in grigio.

Conferma del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) nei genotipi di EBV

Limite inferiore di quantificazione nei genotipi nel plasma

Il valore LLoQ stabilito utilizzando lo standard OMS è stato valutato testando i genotipi EBV 1 (Raji, Akata e B95-8) e 2 (AG876, P3H1 e Jijoye) addizionati a 3x LLoQ nel plasma umano negativo a EBV. Tre replicati di ciascun elemento del pannello sono stati analizzati con un lotto di reagente. I risultati vengono illustrati in Tabella 5.

Tabella 5: Conferma del LLoQ nei genotipi nel plasma

Isolato (genotipo)	N	N rilevato	Concentrazione target (log IU/mL)	Test EBV Quant Assay (log IU/mL)	DS (log IU/mL)	Bias (log IU/mL)
Raji (genotipo 1)	3	3	2,56	2,84	0,12	0,3
Akata (genotipo 1)	3	3	2,56	2,95	0,11	0,4
B95-8 (genotipo 1)	3	3	2,56	2,59	0,08	0,1
AG876 (genotipo 2)	3	3	2,56	2,72	0,23	0,2
P3H1 (genotipo 2)	3	3	2,56	2,91	0,07	0,4
Jijoye (genotipo 2)	3	3	2,56	2,75	0,16	0,2

DS = deviazione standard

Riconducibilità al primo standard internazionale dell'OMS

Durante lo sviluppo e la produzione del prodotto è stata impiegata una serie di standard secondari con concentrazioni note con l'obiettivo di stabilire la riconducibilità allo standard dell'OMS. Il primo standard dell'OMS per EBV è stato diluito e analizzato insieme agli standard secondari, nonché ai controlli del test e ai calibratori utilizzati nel test EBV Quant Assay Panther Fusion al fine di valutare la riconducibilità in conformità alle linee guida CLSI EP32-R¹⁰. La concentrazione degli standard secondari era compresa tra 2,30 e 6,30 log₁₀ IU/mL.

Riconducibilità allo standard dell'OMS utilizzando il plasma

Le concentrazioni analizzate per il primo standard dell'OMS per EBV erano comprese tra 2,26 e 4,70 log₁₀ IU/mL. I pannelli di plasma, gli standard secondari, i controlli e i calibratori del test dell'OMS sono stati recuperati come previsto nell'intervallo lineare del test, come è visibile in Figura 2.

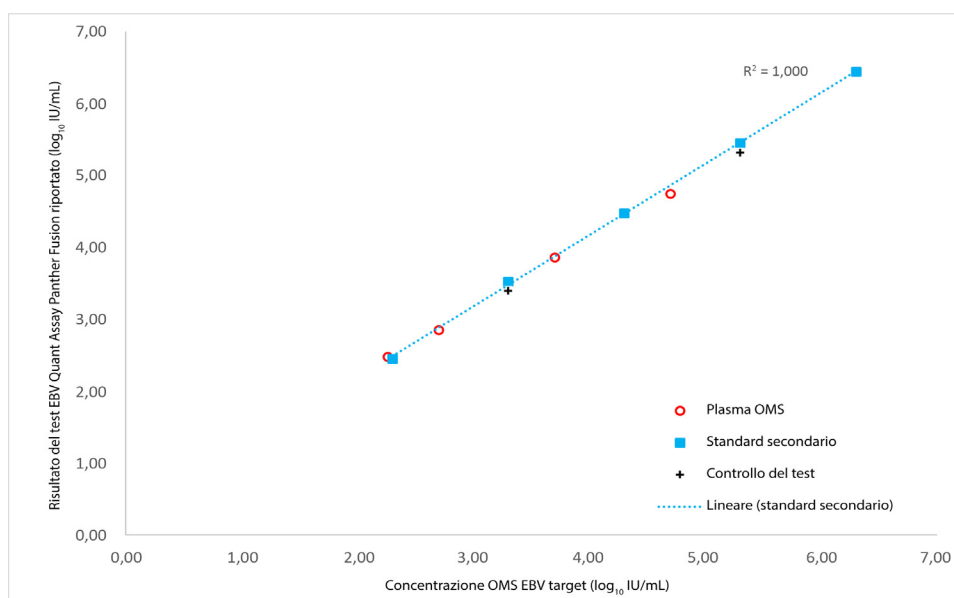


Figura 2. Riconducibilità tra le concentrazioni target del primo standard dell'OMS per EBV e le concentrazioni segnalate nel test EBV Quant Assay Panther Fusion (standard dell'OMS diluito nel plasma)

Precisione all'interno del laboratorio

Per valutare la precisione all'interno del laboratorio, è stato realizzato un pannello positivo a 2 membri diluendo il DNA di EBV in plasma negativo per EBV. I campioni di plasma del pannello positivo sono stati analizzati da 2 operatori utilizzando 3 lotti di reagente su 3 sistemi Panther Fusion per 6 giorni di analisi non consecutivi. Ogni membro del pannello è stato analizzato in triplicato per ciascuna sessione analitica. I risultati sono stati analizzati secondo le raccomandazioni delle linee guida CLSI EP-05-A3¹¹.

La Tabella 6 illustra la riproducibilità dei risultati del test (in log IU/ml) per il pannello positivo tra strumenti, operatori, lotti di cartucce, sessioni analitiche, giorni, all'interno delle sessioni analitiche e complessiva.

Tabella 6: riproducibilità del test EBV Quant Assay Panther Fusion nei campioni di plasma

N	Concentrazione media (log IU/ml)	Tra lotto	Tra strumenti	Tra operatori	Tra giorno	Tra sessioni analitiche	Nelle sessioni analitiche	Totale
		DS	DS	DS	DS	DS	DS	DS
30	2,32	0,02	0,12	0,13	0,17	0,05	0,17	0,29
30	4,58	0,19	0,18	0,11	0,17	0,02	0,17	0,16

DS = deviazione standard

Sostanze potenzialmente interferenti

La suscettibilità del test EBV Quant Assay Panther Fusion all'interferenza da parte di livelli elevati di sostanze endogene, anticoagulanti e farmaci comunemente prescritti ai pazienti sottoposti a trapianto è stata valutata in matrici di plasma negativo in presenza o assenza di 2,56 log IU/ml di EBV nel plasma. Le concentrazioni di prova per ciascuna delle sostanze interferenti sono state selezionate sulla base dei riferimenti bibliografici disponibili e delle linee guida CLSI EP07¹² e EP37.¹³

Non è stata osservata alcuna interferenza nell'accuratezza della quantificazione del test nei campioni di plasma in presenza di potenziali sostanze endogene elencate in Tabella 7.

Tabella 7: Sostanze endogene

Sostanza potenzialmente interferente	Numero di replicati	Concentrazione analizzata
Albumina	3	375 mg/dL
Bilirubina coniugata	3	40 mg/dL
Emoglobina	3	1000 mg/dL
Eparina	3	0,66 mg/dL
DNA genomico umano	3	0,2 mg/mL
Trigliceridi	3	3,45 mg/dL
Bilirubina non coniugata	3	0,40 mg/dL

Non è stata osservata alcuna interferenza nell'accuratezza della quantificazione del test in presenza di potenziali sostanze interferenti elencate in Tabella 8.

Tabella 8: Sostanze esogene

Sostanza potenzialmente interferente	Numero di replicati	Concentrazione analizzata
Aciclovir	3	6,6 mg/dL
Azatioprina	3	0,258 mg/dL
Cefotetano	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Potassio clavulanato	3	1,47 mg/mL
Ciclosporina	3	0,180 mg/dL
EDTA	3	0,099 mg/dL
Everolimus	3	0,0183 mg/dL
Fluconazolo	3	2,55 mg/dL
Foscarnet	3	108 mg/dL
Ganciclovir	3	3,96 mg/dL
Letermovir	3	3,9 mg/dL
Micofenolato mofetile	3	18,1 mg/dL
Acido micofenolico	3	18,1 mg/dL
Piperacillina	3	110 mg/dL
Prednisone	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Citrato di sodio	3	3200 mg/dL
Sulfametossazolo	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobactam sodico	3	10,2 mg/dL
Tenofovir disoproxil fumarato	3	0,0978 mg/dL
Ticarcillina disodica	3	151 mg/dL
Trimetoprim	3	4,2 mg/dL
Valaciclovir	3	3,83 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomicina	3	12 mg/dL

Specificità analitica

La potenziale reattività crociata con i patogeni elencati nella Tabella 9 è stata valutata in matrici negative a EBV in presenza o assenza di 2,56 log IU/mL di EBV nel plasma. I patogeni sono stati analizzati alla massima concentrazione disponibile. Non è stata osservata alcuna reattività crociata o interferenza a livello di accuratezza della quantificazione.

Tabella 9: Patogeni analizzati per la specificità analitica

Microrganismo/Patogeno	Concentrazione	Microrganismo/Patogeno	Concentrazione
ADV-4	1.00E+04 TCID ₅₀ /mL	Virus parainfluenzale umano	1.00E+05 IU/mL
<i>Aspergillus niger</i>	1.00E+06 CFU/mL	Influenza A	1.00E+05 IU/mL
BKV	5.00E+06 cp/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.00E+06 cp/mL
<i>Candida albicans</i>	1.00E+06 CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1.00E+06 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.00E+06 IFU/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1.00E+06 CCU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1.00E+06 cp/mL	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1.00E+06 cp/mL
CMV	1.00E+05 cp/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.00E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.00E+06 CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.00E+06 CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1.00E+06 CFU/mL	Rinovirus	1.00E+06 cp/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.00E+06 CFU/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1.00E+06 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1.00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.00E+06 CFU/mL
HBV	1.00E+05 IU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.00E+06 CFU/mL
HCV	1.00E+04 IU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.00E+06 CFU/mL
HIV-1	1.00E+05 IU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.00E+06 CFU/mL
HPV-18 (cellule HeLa infettate)	1.00E+05 cellule/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.00E+06 CFU/mL
Virus dell'herpes umano 6	1.00E+05 cp/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.00E+05 trofozoiti/mL
Virus dell'herpes umano 7	1.00E+03 TCID ₅₀ /mL	Virus varicella-zoster	1.00E+05 cp/mL
Virus dell'herpes umano 8	1.00E+05 TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.00E+06 CFU/mL
Metapneumovirus umano	1.00E+03 IU/mL	Virus Zika	1.00E+05 TCID ₅₀ /mL

CCU/mL = unità modificanti colonie per mL.

CFU/mL = Unità formanti colonie per mL

cp/mL=copie per mL.

IFU/mL = Unità formanti inclusioni per mL

IU/mL = Unità internazionali per mL

TCID₅₀/mL = Unità di dose infettiva delle colture tissutali per mL

Correlazione fra metodi

Questo studio è stato progettato in conformità alle linee guida CLSI EP09c¹⁴.

Correlazione fra metodi con plasma

Le prestazioni del test EBV Quant Assay Panther Fusion sono state valutate rispetto a un test di confronto testando campioni raccolti retrospettivamente e campioni artificiali che coprivano l'intero range lineare. Per la regressione Deming è stato utilizzato un totale di 121 campioni biologici nell'ambito dell'intervallo lineare comune a entrambi i test, ed è stato dimostrato un coefficiente di correlazione del 98,35% come illustrato in Figura 3.

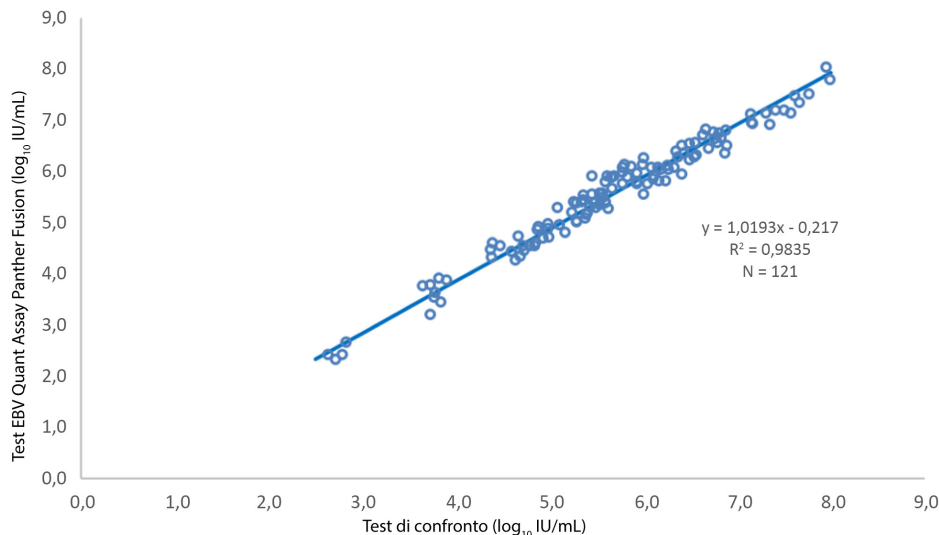


Figura 3. Correlazione tra la carica virale di EBV nel test EBV Quant Assay Panther Fusion e un test di confronto su campioni di plasma del test

Contaminazione crociata

La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando campioni STM a cui è stato aggiunto EBV ad alto titolo (1,5E+09 IU/mL) disseminati fra campioni negativi a EBV in una disposizione a scacchiera. L'analisi è stata eseguita nel corso di 5 sessioni analitiche. Il tasso generale di contaminazione crociata era dello 0,67% (1/150).

Bibliografia

1. Tzellos S, Farrell PJ. 2012. Epstein-Barr Virus Sequence Variation—Biology and Disease. *Pathogens*. 1(2):156–174. doi.org/10.3390/pathogens1020156
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis. (2016). <https://www.cdc.gov/epstein-barr/about-mono.html>
3. Kimura H, Kwong Y-L. 2019. EBV Viral Loads in Diagnosis, Monitoring, and Response Assessment. *Front. Oncol.* 9:62.
4. Nijland, ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, ten Berge JJM. 2016 Transplantation Direct 2016;2: e48 doi: 10.1097/TXD.0000000000000557
5. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al; Sixth European Conference on Infections in Leukemia, a joint venture of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT-IDWP), the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the International Immunocompromised Host Society (ICHS) and the European Leukemia Net (ELN). Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematol.* 2016;107(7):803-811. doi:10.3324/haematol.2016.144428
6. Primo standard internazionale dell'OMS per il virus di Epstein-Barr per le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (NIBSC 09/260, versione 4.0).
7. Clinical & Laboratory Standards Institute. Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Web site <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (April 4, 2022)
8. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guidelines – Second Edition. Documento CLSI EP17-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, PA.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guidelines. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference Testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
14. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni



Diagenode S.A.
3, Rue du Bois Saint Jean
4102 Seraing, Belgium



UK Responsible Person:
Hologic Ltd.
Oaks Business Park, Crewe Road
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ
United Kingdom

Sponsor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza tecnica e del servizio di assistenza clienti specifici del paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e i relativi loghi sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi.

Quasar è un marchio commerciale registrato e concesso in licenza da Biosearch Technologies, Inc.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito web www.hologic.com/patents.

©2022-2025 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-26019-701 Rev. 003
2025-03

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-26019 Rev. 003	Marzo 2025	- Sezione Materiali necessari aggiornata. - Aggiornata la sezione dei Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti. - Aggiornate le informazioni sui pericoli in base alle ultime schede di sicurezza. - Aggiunte le condizioni di conservazione dei campioni congelati nella sezione Raccolta, lavorazione e conservazione dei campioni biologici - Aggiunta la precisione all'interno del laboratorio nella sezione relativa alle Prestazioni - Eseguite modifiche amministrative ordinarie.